

# Discriminación de Perfiles Específicos de Ácidos Biliares Fecales de Hippocamelus antisensis (Cervidae) y Especies Simpátricas Mediante Cromatografía en Capa Fina

Discrimination of Specific Profiles of Fecal Bile Acid of Hippocamelus antisensis (Cervidae) and Sympatric Species Using Thin-Layer Chromatography

Carla P. López<sup>1\*</sup>, Víctor D. Juarez<sup>2</sup> & Ada V. Cazón<sup>2</sup>

Autor corresponsal: lopezcarla987@gmail.com

#### Resumen

Hippocamelus antisensis "taruca", es un ciervo andino sudamericano que habita la cordillera de los Andes desde el sur de Perú hasta La Rioja en Argentina. Esta especie es simpátrica con otros cetartiodáctilos, lo que complica la identificación de sus heces mediante métodos organolépticos. Los ácidos biliares fecales son especie-específicos y pueden caracterizarse por cromatografía en capa fina (TLC). Este artículo presenta un estudio que tiene como objetivo identificar los patrones de ácidos biliares fecales de la taruca y otras especies herbívoras simpátricas mediante TLC, y demostrar que la antigüedad de las heces no afecta esta identificación. Se analizaron muestras de heces de H. antisensis, Ovis orientalis aries "oveja" y Lama glama "llama" provenientes de Finca Bárcena (Provincia de Jujuy). Se extrajo 1 g de heces mediante Bz:Me:OH con agitación durante 3 hs., seguido de filtrado y concentración. Cada extracto se sembró en placas de silicagel con estándares y extractos de heces conocidas. No hubo interferencia de pigmentos dietéticos en los perfiles de ácidos biliares. El perfil de H. antisensis se distinguió por la presencia de ácido deoxicólico, ácido dehydrocólico y el compuesto X3. Los perfiles de O. orientalis aries y L. glama fueron similares, con la presencia distintiva de ácido ab2 en L. glama. El índice de similitud de Jaccard entre especies varió de 0.18 a 0.67.

Palabras clave: Ácidos biliares; Llama; Oveja; Taruca; TLC.

#### Abstract

Hippocamelus antisensis, known as "taruca", is a South American Andean deer that inhabits the Andes mountain range from Southern Peru to La Rioja in Argentina. This species is sympatric with other cetartiodactyla, complicating the identification of its feces through organoleptic methods. Bile acids in feces are species-specific, which could be characterized by thin-layer chromatography (TLC). This article introduces a study that aims to identify the fecal bile acid patterns of "taruca" and other sympatric herbivores using TLC, and to demonstrate that the age of the feces does not affect this identification. Extract of feces were obtained from H. antisensis, Ovis orientalis aries "sheep" and Lama glama "lama", belonging to Finca Barcena (Jujuy Province). A 1-gram sample of feces was extracted with Bz:Me:OH with agitation for 3 hours, followed by filtration and concentration. Each extract was seeded in silicagel plates with standards and fecal extracts of known origin. Interferences from dietary pigments on faecal bile acid profiles were not found. H. antisensis profile was distinguished from the rest by the presence of deoxycholic acid, dehydrocholic acid and an unknown compound (X3). O. orientalis aries and L. glama have shown similar profiles, but in L. glama presence of ab2 acid was distinctive. Jaccard similarity index between species ranged from 0.18 to 0.67.

Key words: Bile Acids; Lama; Sheep; Taruca; TLC.

López, C. P, Juárez, V. D., & Cazón, A. V. (2024). Discriminación de Perfiles Específicos de Ácidos Biliares Fecales de *Hippocamelus antisensis* (Cervidae) y Especies Simpátricas Mediante Cromatografía en Capa Fina. *Revista Ciencias Naturales*, 2(2), 121–127.

https://id.caicyt.gov.ar/ark:/s29535441/p66mywuuf

Recibido: 16/12/2023 Aceptado: 28/6/2024 Publicado: 15/8/2024 Editora: Adriana Alvarez

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Laboratorio de Investigaciones Botánicas (LabIBo). Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta. Av. Bolivia 5150, (A4408FVL) Salta, Argentina.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Cátedra de Química Orgánica. Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta. Av. Bolivia 5150, (A4408FVL) Salta, Argentina.

# INTRODUCCIÓN

Hippocamelus antisensis (Cetartiodactyla), conocido como "taruca", es un ciervo andino de tamaño mediano, con un peso que oscila entre 46 y 65 kg y una altura a los hombros de 69 a 80 cm, siendo las hembras más pequeñas que los machos; los machos adultos presentan astas (Herreros de Lartundo & Sielfeld Kowald, 2011). El pelaje es largo y grueso, de coloración gris-arena, con marcas oscuras en la cara distintivas entre individuos. Se alimentan de pequeñas plantas disponibles en su hábitat, siendo exclusivamente herbívoros (Barrio, 2010; Herreros de Lartundo & Sielfeld Kowald, 2011).

La distribución de la especie está limitada a la Cordillera de los Andes, desde el norte de Perú hasta el noroeste de Argentina y el norte de Chile (Regidor & Costilla, 2004; Barrio, 2010). En nuestro país, su ocurrencia se ha citado para las provincias de Jujuy, Salta, Tucumán, Catamarca y La Rioja (Regidor & Rosati, 2001). Según Guerra & Pastore (2019), se estima que en Argentina existen 2500 individuos maduros de la especie, que enfrentan amenazas como la pérdida y degradación del hábitat, el avance de la frontera agropecuaria y ganadera, como así también el aumento de la urbanización, el desarrollo de la actividad minera y la caza.

Según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN), la taruca se encuentra en la categoría de Vulnerable (Barrio et al., 2017). Asimismo, la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre (CITES) la incluye en el Apéndice I (Barrio & Ferreyra, 2008), y a nivel nacional es considerada En Peligro (Res. SAyDS 1030/04; Guerra & Pastore, 2019). Desde 1996, la taruca posee la máxima categoría de conservación como Monumento Natural Nacional a través de la Ley 24.702. En términos de la Ley 22.351, se recomienda a la Administración de Parques Nacionales diagramar e implementar un plan de manejo para la especie, siendo necesario el estudio de su distribución y abundancia (Regidor & Costilla, 2004; Guerra & Pastore, 2019).

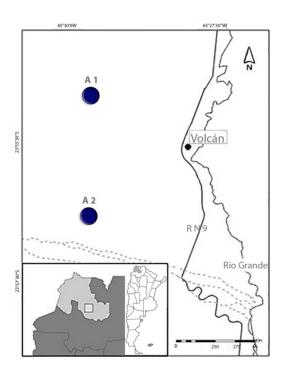
En términos de estudios de poblaciones, las metodologías utilizadas tradicionalmente para caracterizar las especies silvestres se basan en capturas (Pérez Vargas & Fuentes, 2008), encuentros directos (Núñez & Tarifa, 2006), entrevistas a pobladores locales y evidencias indirectas de su presencia (Regidor & Costilla, 2004). Identificar las heces en el campo es fundamental para la confirmación de la presencia de especies en áreas determinadas. El reconocimiento puede realizarse con base en las características externas de las heces, como el tamaño y la forma, entre otras (Fernández et al., 1997). Sin embargo, en algunas ocasiones puede ser engorroso debido a los efectos de las condiciones ambientales y a los procesos degradativos a los que están expuestas, más aún cuando cohabitan con especies con las que pueden ser confundidas (Khorozyan et al., 2007; Cazón Narvaéz et al., 2009) como cabras, ovejas y guanacos (Guerra & Pastore, 2019).

La identificación de las heces a través del perfil de ácidos biliares ha sido propuesta como una técnica útil, debido a que los ácidos biliares fecales y sus concentraciones relativas son diferentes entre las especies, generando un patrón único mediante la técnica bioquímica de Cromatografía en Capa Fina (TLC) (Major et al., 1980; Fernández et al., 1997; Cazón Narvaéz & Sühring, 1999). En mamíferos, la TLC de ácidos biliares ha sido utilizada para la identificación de heces de especies del orden Carnívora (Major et al., 1980; Fernández et al., 1997; Cazón Narvaéz & Sühring, 1999; Khorozyan et al., 2007), de omnívoros del orden Xenarthra (Araujo et al., 2010; Casanave et al., 2012) y en herbívoros del orden Artiodactyla (Cazón Narvaéz & Juárez, 2014). Sin embargo, también se ha documentado la incidencia de pigmentos producto de la dieta en la lectura de ácidos biliares fecales (Quinn & Jackman, 1994; Jiménez & Jaksic, 1996). En este trabajo se propone utilizar la TLC para extraer e identificar ácidos biliares fecales presentes en heces de H. antisensis, Ovis orientalis aries y Lama glama, y con base en ello responder los siguientes interrogantes: 1) ¿Es posible aplicar la técnica de TLC para identificar ácidos biliares fecales en las especies bajo estudio, considerando su tipo de dieta? 2) ¿Afecta la antigüedad de las heces a la presencia y concentración de los ácidos biliares fecales? 3) ¿Es efectiva la TLC para generar un patrón de ácidos biliares de *Hippocamelus antisensis* que permita discriminar sus heces de las especies simpátricas analizadas en este trabajo?

# MATERIALES Y MÉTODOS

La recolección de muestras se llevó a cabo en dos áreas (de ahora en más, A1 y A2) pertenecientes a la Finca Bárcena, ubicada en la localidad de Volcán, Provincia de Jujuy (23° 54' 060" O, 65° 29' 655"). Ambas áreas corresponden a la Provincia Fitogeográfica de la Prepuna, con una altitud entre 2000 y 3400 m snm (Fig. 1).

Se recolectaron un total de 49 muestras de heces los días 24, 25 y 26 de mayo de 2012. En el área A1 se obtuvieron 20 muestras de *H. antisensis*, mientras que en el área A2 se



**Figura 1.** Areas de muestreo, A1 y A2, en la provincia de Jujuy (Argentina).

recolectaron 23 muestras de *H. antisensis*, tres de *O. aries* y tres de *L. glama*. La identificación de las heces se realizó con base a características físicas y organolépticas. Las muestras de ganado se recogieron directamente de los corrales y fueron colectadas con guantes de látex y depositadas en bolsas de papel. Se registró el estado de meteorización o invasión por hongos y se clasificaron como frescas o secas. Además, se realizó un registro fotográfico de los bosteaderos.

En el laboratorio, se utilizó el método desarrollado por Cazón Narvaéz & Sühring (1999). El patrón de ácidos biliares de cada especie se determinó comparando los valores del factor de retención R<sub>f</sub> (relación entre la distancia recorrida por el compuesto y la distancia recorrida por el frente del solvente), así como el color e intensidad (concentración) de cada compuesto con los correspondientes a los ácidos biliares estándares utilizados como referencia. El R<sub>f</sub> mide la capacidad de migración relativa de un compuesto en la placa cromatográfica en función de la solubilidad de cada ácido biliar.

Los compuestos orgánicos con valores de R<sub>f</sub> mayores que el del colesterol fueron descartados como ácidos biliares, pero se consideraron en la descripción de los patrones cromatográficos. La similitud en la composición de ácidos biliares entre las especies se evaluó a través del Índice de Jaccard utilizando el software Infostat. Los valores de este índice oscilan entre 0 (sin similitud) y 1 (total similitud).

### RESULTADOS

En el 90% de las placas cromatográficas, los ácidos biliares estándares se desarrollaron correctamente, las bandas tomaron el color característico y alcanzaron los valores de R<sub>f</sub> que los definen, por lo que se logró reconocer efectivamente los compuestos específicos (Tabla 1), a excepción de los ácidos dehidrocólico y litocólico, que mostraron colores de baja intensidad. También se desarrollaron y revelaron en las placas dos ácidos biliares no identificados ab1 con

Estándares	Color	Media ± E.E
Colesterol	Violeta oscuro	0.66 ± 0.03
Ácido cólico	Marrón	0.24 ± 0.06
Ácido dehidrocólico	Naranja	0.34 ± 0.01
Ácido deoxicólico	Verde-marrón	0.41 ± 0.05
Ácido glicólico	Violeta	0.19 ± 0.03
Ácido litocólico	Gris	0.54 ± 0.05
Ácido quenodeoxicólico	Azul	0.34 ± 0.03
Ácido taurodeoxicólico	-	0 ± 0
Ácido ursodeoxicólico	Azúl	0.45 ± 0.03

Tabla 1. Intervalo de confianza, media (± E.E) de los valores de R, de los ácidos biliares y los

 $R_f$ =0.28 y ab2 con  $R_f$ = 0.34 y compuestos no identificados como ácidos biliares, con  $R_f$  mayores al colesterol (X1 con  $R_f$ =0.68, X2 con  $R_f$ =0.78, X3 con  $R_f$ =0.92 y X4 con  $R_f$ =0.97). El color de los extractos fue pardo verdoso. La presencia de pigmentos que se visualizaron con luz ultravioleta en las placas cromatográficas recién desarrolladas y sin revelar, fueron marcados y se descartaron en el revelado y análisis de las placas. No se encontró diferencias en la presencia y

concentración de ácidos biliares fecales, entre los grupos de muestras frescas y secas en ambas áreas de estudio y en las tres especies estudiadas.

El patrón de ácidos biliares fecales para las especies estudiadas, se describen en la Tabla 2. Todas las especies presentaron colesterol, ácido litocólico, ácido cólico, el ácido ab1 y los compuestos X1, X2 y X4. El perfil de *H. antisensis* se distinguió del resto

Ácidos biliares, Colesterol y compuestos no identificados (ab)	Hippocamelus antisensis N=43	Lama glama N=3	Ovis orientalis aries N=3
X4	0.97±0.02 (xx)	0.97±0.02 (x)	0.97±0.02 (x)
X3	0.92±0.03 (xx)	-	-
X2	0.78±0.02 (xx)	0.78±0.01 (x)	0.78±0.01 (x)
X1	0.68±0.01 (xx)	0.67±0.01 (x)	0.67±0.01 (x)
Colesterol (violeta)	0.66 ± 0.03 (xxx)	0.66±0.02 (xxx)	0.66±0.02 (xxx)
Ácido litocólico (azul-violáceo)	0.54 ± 0.05 (xx)	0.55±0.04(xx)	0.55±0.04(xx)
Ácido deoxicólico (verde-marrón)	0.41 ± 0.05 (xx)	-	-
Ácido dehydrocólico (anaranjado)	0.34 ± 0.01 (x)	-	-
Ab1 (marrón)	0.34 ± 0.01 (x)	0.34 ± 0.01 (x)	0.34 ± 0.01 (x)

**Tabla 2.** Ácidos biliares presentes en las heces de H. antisensis, O. aries y L. glama. La concentración baja (x), media (xx) y alta (xxx) fueron determinadas por estimaciones visuales de la intensidad del color del compuesto esteroide con respecto a los estándares. Se incluyen al ácido biliar no identificado (ab1 y ab2) y los compuestos con R<sub>f</sub> mayores al colesterol (X1, X2, X3 y X4).

por la presencia de ácido deoxicólico, ácido dehydrocólico y el compuesto X3. Los perfiles de *O. orientalis aries* y *L. glama* fueron similares entre ellos, con la excepción de la presencia del ácido ab2 en *L. glama*.

El índice de Jaccard para las comparaciones entre las tres especies bajo estudio, varió entre 0.18 y 0.67. Se encontró que el patrón de ácidos biliares fecales de *H. antisensis* posee bajo grado de similitud con *O aries* y *L. glama*, con valor 0.18. El mayor grado de similitud resultó entre *O. orientalis aries* y *L. glama* (0.67).

## DISCUSIÓN

En este trabajo, logramos a través de la TLC extraer e identificar los ácidos biliares fecales de las especies *Hippocamelus antisensis*, *Ovis orientalis aries* y *Lama glama* bajo estudio. La técnica de cromatografía en capa fina supone ser sencilla y fácil para el operador (Cazón Narvaéz & Sühring, 1999), aunque requiere como cualquier técnica de laboratorio, conocimientos teóricos y habilidades prácticas (Khorozyan *et al.*, 2007; Araujo *et al.*, 2010). Para la identificación de los ácidos biliares fecales se requirió observación rigurosa de las bandas en las placas, registro de color, intensidad y R<sub>p</sub>, necesarios para la determinación de los patrones de cada especie.

Las diferencias de color de los extractos entre las especies, según sean carnívoras, omnívoras o herbívoras, pueden manifestar composición de la dieta, principalmente debido a los pigmentos de plantas (Araujo et al., 2010). Las especies con las que se trabajó son herbívoras, lo que justifica el color pardo verdoso de los extractos, debido a la presencia de pigmentos. Se encontraron pequeños restos de plantas sin digerir, que fueron procesados con tamiz. Algunos autores han documentado que el alto nivel de pigmentos en las heces afecta la detectabilidad de los ácidos biliares con TLC (Quinn & Jackman, 1994; Picton & Kendall, 1994; Rödel et al., 2001), sugiriendo que la técnica no debe usarse para especies que se alimenten de plantas (Fernández et al., 1997, Capurro et al., 1997). En nuestra experiencia a pesar de su presencia, los pigmentos de plantas no interfirieron en el análisis, ya que éstos se visualizaron con luz ultravioleta en las placas cromatográficas recién desarrolladas y sin revelar, luego se marcaron y se descartaron en el revelado. De ésta manera fue posible identificar las bandas de ácidos biliares por el color y el R<sub>s</sub> característico, como se ha propuesto para especies herbívoras (Cazón Narvaéz & Juárez, 2014) y omnívoras (Araujo et al., 2010). Recomendamos nuevos acercamientos para evaluar la posible variabilidad que pudiera existir en el perfil de ácidos biliares fecales, teniendo en cuenta que la técnica TLC utilizada, fue puesta a punto para carnívoros (Cazón Narvaéz & Sühring, 1999).

Se sabe que los ácidos biliares son moléculas estables (Lin et al., 1978) y también solubles, por lo que se ha sugerido que el tiempo de exposición en la naturaleza, dificulta el uso de la TLC de ácidos biliares fecales (Fernández et al., 1997, Khorozyan et al., 2007). Sin embargo, Picton & Kendall (1994) han demostrado en el estudio de Ursus americanus y Ursus arctos, que la antigüedad de las heces no tuvo incidencias en la discriminación por TLC de ácidos biliares fecales. A partir de las heces de H. antisensis, O. orientalis aries y L. glama colectadas en la Provincia de Jujuy, se han detallado observaciones de muestras que presentaban rasgos con alto grado de meteorización y muy antiguas, que sin embargo no revelaron diferencias significativas en la presencia y concentraciones de ácidos biliares fecales con muestras frescas. Esto podría atribuirse al clima seco del área de estudio, que evitaría la dilución de los compuestos químicos presentes en las heces (Capurro et al., 1997).

La TLC de ácidos biliares fecales demostró ser eficaz para discriminar las heces de *H. antisensis*, *O. orientalis aries* y *L. glama*. La aplicación de la técnica es muy valiosa y útil para éstas especies simpátricas, ya que las heces suelen confundirse en la naturaleza por el parecido en las características externas. El perfil de *H. antisensis s*e distinguió del resto por la presencia de ácido deoxicólico, ácido

dehydrocólico y el compuesto X3. Los perfiles de *O. orientalis aries* y *L. glama* fueron similares entre ellos, en *L. glama* fue distintivo la presencia del ácido ab2. La presencia y concentraciones de ácidos biliares en cada una de las muestras de heces, no mostraron variaciones entre individuos ni entre áreas de estudio, tal y como lo han propuesto diversos autores (Major *et al.*, 1980; Fernández *et al.*, 1997; Khorozyan *et al.*, 2007; Araujo *et al.*, 2010). El índice de similitud de Jaccard demostró la distancia que existe entre los patrones de las especies bajo estudio, que evidencia la especificidad del perfil de ácidos biliares fecales obtenidos por TLC (Guerrero *et al.*, 2006).

Proponemos los resultados obtenidos a través de la TLC de ácidos biliares fecales para futuros estudios, ya que consideramos que ofrece un método preciso y no invasivo para identificar la presencia de *H. antisensis*, superando las limitaciones de los métodos tradicionales basados en observaciones directas y características físicas de las heces.

La aplicación de TLC en estudios de H. antisensis es particularmente valiosa debido a la naturaleza esquiva de ésta especie y su estado de conservación crítico. Con una población estimada de solo 2500 individuos maduros en Argentina, cualquier herramienta que mejore la precisión del monitoreo de su población y distribución es crucial. Los resultados obtenidos pueden facilitar la identificación de áreas claves de hábitat, permitiendo focalizar regiones prioritarias y adoptar medidas específicas para proteger estos entornos. También, podría contribuir a evaluar el impacto de factores antropogénicos, como la actividad minera y el desarrollo agrícola, en su supervivencia.

En resumen, la implementación de la TLC en estudios de *H. antisensis* no solo mejora la precisión en la identificación y monitoreo de esta especie, sino que también ofrece una herramienta robusta para la investigación de su ecología, estrategias de manejo y conservación más efectivas, contribuyendo a la preservación de una especie emblemática y en peligro de extinción.

### **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos a la Familia Bárcena por la autorización para llevar a cabo el estudio en su finca. A Pablo Ortega Baes por la revisión crítica del manuscrito. Al CIUNSA por el financiamiento. A Ivana Guerra por el soporte de campaña.

### REFERENCIAS

- Araujo, M. S., Ciuccio, M., Cazon, A. V, & Casanave, E. B. (2010). Differentiation of Xenarthra (Mammalia) species through the identification of their fecal bile acid patterns: An ecological tool. *Revista Chilena de Historia Natural*, 83, 557-566. https://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2010000400009
- Barrio, J., & Ferreyra, N. (2008). *Hippocamelus antisensis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008:e.T10053A3156943. <a href="http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T10053A3156943.en">http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T10053A3156943.en</a>
- Barrio, J. (2010). TARUKA Hippocamelus antisensis (d'Orbigny 1834). En J. M. B. Duarte & S. Gonzalez, (Eds.). Neotropical cervidology: biology and medicine of Neotropical deer (pp.77-88). FUNEP y IUCN.
- Barrio, J., Núñez A., Pacheco, L., Regidor, H.A., & Fuentes-Allende, N. (2017). *Hippocamelus antisensis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2017: e.T10053A22158621. <a href="http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-2.RLTS.T10053A22158621.en">http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-2.RLTS.T10053A22158621.en</a>
- Capurro, A. F., Novaro, A. J., Travaini, A., & Romero, M. S. (1997). Improved bile-acid thin-layer chromatography to identify feces of neotropical carnivores. The Journal of wildlife management, 61, 1424-1427. <a href="https://doi.org/10.2307/3802146">https://doi.org/10.2307/3802146</a>
- Casanave, E. B., Araujo, M. S., & López, G. H. (2012). Use of chromatography in animal ecology. Chromatography—The most versatile method of chemical analysis. <a href="https://doi.org/10.5772/48669">https://doi.org/10.5772/48669</a>
- Cazón Narváez, A. V., & Sühring, S. S. (1999).

  A technique for extraction and Thin Layer Chromatography visualization of fecal bile acids applied to neotropical felid scats. Revista de Biología Tropical, 47, 245-249. https://doi.org/10.15517/rbt.v47i1-2.33042
- Cazón Narváez, A. V., Juárez, V. D., Monjeau, J. A., & Lilienfeld, M. (2009). Discriminación de heces de puma (*Puma concolor*) y jaguar (*Panthera onca*) por identificación de sus ácidos biliares: una técnica para el monitoreo de carnívoros silvestres. *Mastozoología Neotropical*, 16, 449-453.

- Cazón Narváez, A. V., & Juárez V. D. (2014) Identificación de mamíferos silvestres y confirmación de su presencia, por cromatografía en capa fina (TLC) de sus ácidos biliares. COMFAUNA Memorias del X Congreso Internacional de Fauna Silvestre de América Latina, Salta, Argentina.
- Fernández, G. J., Corley, J. C., & Capurro, A. F. (1997). Identification of cougar and jaguar feces through bile acid chromatography. *The Journal of wild life management*, 506-510. https://doi.org/10.2307/3802608
- Guerra, Ivana C.; Pastore, Hernán (2019). Hippocamelus antisensis. En: SAyDS—SAREM (Eds.) Categorización 2019 de los mamíferos de Argentina según su riesgo de extinción. Lista Roja de los mamíferos de Argentina. http://cma.sarem.org.ar.
- Guerrero, C., Espinoza, L., Niemeyer, H. M., & Simonetti, J. A. (2006). Using fecal profiles of bile acids to assess habitat use by threatened carnivores in the Maulino forest of central Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 79, 89-95. <a href="http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2006000100008">http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2006000100008</a>
- Herreros de Lartundo, J., & W. Sielfeld Kowald. (2011). La Taruca, Huemul del norte (1ª Ed.). Ministerio del Medio Ambiente. Arica, Chile. <a href="https://educacion.mma.gob.cl/wpcontent/uploads/2015/09/LaTaruca\_HuemulDelNorte.pdf">https://educacion.mma.gob.cl/wpcontent/uploads/2015/09/LaTaruca\_HuemulDelNorte.pdf</a>
- Jiménez, J. E., & Jaksic, F. M. (1996). Inability of thin-layer chromatography to distinguish feces from congeneric foxes by their bile acid contents. *Acta Theriologica*, 41, 211-216. https://doi.org/10.4098/AT.arch.96-21
- Khorozyan, I. G., Cazón, A., Maljhasyan, A. G., & Abramov, A. V. (2007). Using thin-layer chromatography of fecal bile acids to study the leopard (*Panthera pardus ciscaucasica*) population. *Biology Bulletin*, 34, 361-366. <a href="https://doi.org/10.1134/S1062359007040085">https://doi.org/10.1134/S1062359007040085</a>
- Lin, D. S., Connor, W. E., Napton, L. K., & Heizer, R. F. (1978). The steroids of 2000-year-old human coprolites. *Journal of Lipid Research*, 19, 215-221. https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)41560-3
- Major, M., Johnson, M. K., Davis, W. S., & Kellogg, T. F (1980). *Identifying scats by recovery of bile acids. The Journal of Wildlife Management*, 290-293. <a href="https://doi.org/10.2307/3808391">https://doi.org/10.2307/3808391</a>
- Núñez, A., & Tarifa, T. (2006). Tamaño de grupo, estructura de edad y proporción de sexos de una población de taruca (*Hippocamelus antisensis* d'Orbigny, 1834) en el cantón Lambate, Departamento de La Paz, Bolivia. *Ecología en Bolivia*, 41, 171-177.

- Pérez Vargas, J., & Fuentes, N. (2008).

  Diagnóstico Poblacional del Guanaco
  y Taruca en la Provincia de Parinacota.
  Código BIP 20193099-0. Departamento
  de Medio Ambiente y Áreas Protegidas.
  Corporación Nacional. Forestal Región de
  Arica y Parinacota. Chile.
- Picton, H. D., & Kendall, K. C. (1994). Chromatographic (TLC) differentiation of grizzly bear and black bear scats. *Bears: Their Biology and Management,* 497-501. https://doi.org/10.2307/3872737
- Quinn, T., & Jackman, W. R. (1994). Influence of diet on detection of fecal bile acids by thin-layer chromatography. *The Journal of Wildlife Management*, 295-299. <a href="https://doi.org/10.2307/3809394">https://doi.org/10.2307/3809394</a>
- Regidor, H. A., & Rosati, V. A (2001). Taruca. Los ciervos autóctonos de la Argentina y la acción del hombre. Secretaría de Desarrollo Sustentable y Política Ambiental (pp. 75-82). Ministerio de Desarrollo Social y Medio Ambiente, Buenos Aires.
- Regidor, H.A. & Costilla, M. (2004). Un mapa de distribución para la taruca *Hippocamelus* antisensis en el Noroeste Argentino. *IV* Congreso internacional de manejo de fauna silvestre en la Amazonia y Latinoamérica, 34.
- Rödel, H. G., H. Ebersbach & M. Stubbe 1998. Feeding ecology of the stone marten (*Martes foina*): the importance of mammalian prey. *Beiträge zur Jagdund Wildforschung*, 23, 219-230.